

# Патогенетичні взаємовідношення між бляшковою склеродермією, атрофодермією Пазіні–П'єріні та склероатрофічним ліхеном

Дюдюк А. Д., Романенко К. В., Горбунцов В. В.

ДЗ «Дніпропетровська медична академія Міністерства охорони здоров'я України»

У 130 хворих на бляшкову склеродермію, склероатрофічний ліхен, атрофодермію констатовані подібні показники порушень імунної системи (CD3, CD4, CD8, CD16, CD22, CD25, CD38, CD95, IgA, IgG, IgM, ЦІК, TNF $\alpha$ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10), адсорбційно-реологічних властивостей крові (ОВ, ПВ, ВЕ, ПП, ПН, ЧР), ендотеліальної функції судин (ET1, TxA2, Pgl2, NO $_2$ , cGMP) та експресії 15 імуногістохімічних маркерів шкіри ( $n = 56$ ) (CD3, CD8, CD20, CD79 $\alpha$ , CD68, CD1 $\alpha$ , CD34, CD105,  $\alpha$ SMA, віментин, eNOS, колаген IV типу, Ki67, bcl2, каспаза-3), що дозволяє розглядати бляшкову склеродермію, склероатрофічний ліхен і атрофодермію як підтипи обмеженої склеродермії.

**Ключові слова:** обмежена (бляшкова) склеродермія, склероатрофічний ліхен, атрофодермія, імуногістохімічні та імунологічні дослідження, адсорбційно-реологічні властивості крові, ендотеліальна функція судин.

Обмежена склеродермія (ОС) залишається однією з актуальних проблем сучасної медицини [6]. Відмічається зростання захворюваності на цей дерматоз [7]. Як підтипи ОС розглядаються раніш самостійні захворювання – ідіопатична атрофодермія (АД) Пазіні–П'єріні та склероатрофічний ліхен (СЛ) [10]. У той же час Т. Фицпатрик і співав. (1998) [3] і К. Вулф і співав. (2007) [2] розміщують ОС, АД і СЛ у розділі «запальні хвороби, що не класифікуються». Більшість сучасних класифікацій ОС входить в суперечку з «Міжнародною статистичною класифікацією хвороб ...» 10-го перегляду, в якій під ОС мається на увазі локалізована бляшкова склеродермія (БС), лінійна склеродермія наведена окремим пунктом, а СЛ поряд з АД віднесено до атрофічних уражень шкіри.

Патогенез ОС вивчено надто недостатньо, і багато питань залишається нез'ясованими, а відомості нерідко суперечливі. Особливе значення надається імунним розладам з дисбалансом цитокінової мережі. Практично в усіх хворих на ОС присутні відкладення колагену II, III та IV типів в екстрацелюлярному матриксі ураженої шкіри й підшкірної клітковини [15]. Ушкодження дермальних судин виявляється домінуючою ознакою цього захворювання [18], що вважається основним проявом дисфункції ендотелію [1, 9]. Гіпоксія, що виникає, призводить до стимуляції активності фіброгенних фібробластів шкіри, колагену, фібронектину та молекул клітинної адгезії, замикаючи тим самим хибне коло змін реологічних властивостей крові (РВК) [13].

Визначення клініко-патогенетичної значущості імуноморфологічних і імунологічних зрушень, порушень РВК і ендотеліальної функції судин (ЕФС) сприятиме підвищенню якості ранньої діагностики різних форм перебігу ОС, розробці прогностичних критеріїв, що дозволять надійно контролювати хід патогенетичної терапії захворювання, яка заснована на відновленні імунних порушень, РВК і ЕФС.

**Мета дослідження** – уточнення патогенетичних взаємовідношень різних форм ОС на підставі визначення характерних морфологічних, імунних та судинних порушень.

**Матеріал та методи дослідження.** Під клініко-лабораторним спостереженням перебувало 130 хворих на ОС (73 – з БС, 44 – зі СЛ та 13 – з АД), серед яких 23 чоловіки (віком  $46,4 \pm 3,16$  року) і 107 жінок (віком  $35,6 \pm 1,11$  року) з тривалістю захворювання від 2 до 36 років. Слід відзначити, що у 9 хворих з розповсюдженою БС мали місце також вогнища СЛ, а у двох – АД.

Для морфологічних досліджень з отриманих при біопсії (з інформованої згоди пацієнтів) шматочків шкіри традиційним методом виготовляли серійні гістологічні зрізи товщиною 5 мкм, які зафарбовували гематоксиліном і еозином за ван Гізоном та Вергефом, ставили PAS-реакцію з обробкою контрольних зрізів амілазою. З метою встановлення експресії імуногістохімічних маркерів, використовували спектр 15 антитіл, який включав маркери CD3, CD8, CD20, CD79 $\alpha$ , CD68, CD1 $\alpha$ , CD34,

CD105 (ендоглінін – один із показових рецепторів *TGFβ*, ключового фактора фіброзу), *αSMA*, віментин, ендотеліальна *NOS*, колаген IV типу в базальній мембрані судин і епідермісу, *Ki67*, *bcl2*, каспаза-3 (показники проліферації, апоптозу, антиапоптозу). Етап імуногістохімічного дослідження виконували з використанням систем візуалізації “Ultra-Vision-LP LabVision”. Мікроскопію препаратів проводили на мікроскопі “Olympus-AX70-Provis” (Японія) за допомогою програми аналізу зображення “Analysis-3.2-Pro Soft Imaging” (ФРН). В якості контролю досліджено здорову шкіру 15 осіб, взяту під час ортопедичних реконструктивних операцій.

Дослідження складу популяцій і субпопуляцій мононуклеарів у сироватці крові проводили методом непрямой імунофлюоресценції. Були використані панелі комерційних моноклональних антитіл *CD3*, *CD4*, *CD8*, *CD16*, *CD22*, *CD25*, *CD38* і *CD95* виробництва Інституту експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р. Е. Кавецького НАН України. Використовуючи біохімічні аналізатори “BS-200” (КНР) і “Olympus-AU-640” (Японія), у сироватці крові вивчали показники *IgA*, *IgG*, *IgM* і ЦІК. Концентрацію *NO<sub>2</sub>* (кінцевого стійкого продукту метаболізму *NO*) у сироватці досліджували за допомогою реактиву Грейса, застосовуючи спектрофотометр «СФ-46» (РФ) при довжині хвилі 540 нм, а в якості стандарту використовували нітрит натрію. Імуноферментним методом у плазмі крові вивчали рівні ендотеліну (*ET1*), тромбоксану-*A2* (*TxA2*), простацикліну (*PgI2*), циклічного гуанозинмонофосфату (*cGMP*), *TNFα*, *IL2*, *IL4*, *IL6*, *IL10* [рідер “PR2100 Sanofi diagnostic pasteur” (Франція); набори: “ProCon” (РФ), “Amercham pharmacia biotech” (Великобританія), “IBL” (ФРН)]. За допомогою ротацийного віскозиметру “Low-Shear-30” (Швейцарія) досліджували об’ємну в’язкість (ОВ) плазми. Міжфазну тензіореометрію сироватки крові проводили з використанням комп’ютерних апаратів “ADSA-Toronto” (Італія–ФРН–Канада) і “PAT2-Sinterface” (ФРН); вивчали:

- рівноважний (статичний) поверхневий натяг (ПН) при  $t \rightarrow \infty$ ;
- модуль в’язкоеластичності (ВЕ);
- час релаксації (ЧР);
- поверхневу пружність (ПП);
- поверхневу в’язкість (ПВ).

У наших дослідженнях застосовувалася швидка стресова деформація розширення поверхні (при  $t = 1200$  с). В якості контролю біо-

хімічні, імунологічні, імуноферментні і фізико-хімічні дослідження виконано у 30 практично здорових людей (20 жінок і 10 чоловіків у віці 18-63 років).

Статистична обробка отриманих результатів досліджень проведена за допомогою комп’ютерного варіаційного, кореляційного, регресивного, одно- і багатфакторного (*ANOVA/MANOVA*) дисперсійного аналізу (ліцензійна програма “Statistica-Stat-Soft”, США); оцінювали:

- середні значення (*M*);
- похибки середніх значень (*m*);
- стандартні відхилення (*SD*);
- коефіцієнти кореляції (*r*);
- показники критерію Стюдента (*t*);
- показники критерію Уїлкоксона–Рао (*WR*);
- показники критерію Макнемара–Фішера ( $\chi^2$ );
- вірогідність статистичних показників (*p*).

**Результати досліджень та їх обговорення.** У нашому морфологічному матеріалі гістологічні зміни в біоптатах шкіри ( $n = 65$ ) на різні форми склеродермії до лікування в цілому відповідали описаним в літературі [5]. Однак, поряд з індивідуальними патогістологічними особливостями БС, АД і СЛ мали місце і подібні риси: набряк і гомогенізація колагену дерми й стінок дрібних судин, різного ступеня вираженості лімфогістіотарна інфільтрація, результат в атрофію, що свідчить про подібний морфогенез цих дерматозів.

З метою порівняльного вивчення стану клітинних популяцій і факторів розвитку склерозу, було проведено дослідження 15 імуногістохімічних маркерів в ураженій шкірі при БС, СЛ та АД ( $n = 56$ ). При БС в стадії еритеми й набряку (ст. Е-Н) спостерігалась певна закономірність у нагромадженні –  $(38,91 \pm 3,23)$  % зрілих *T*-лімфоцитів (*CD3+*) в ділянках вираженої інфільтрації (як правило, периваскулярній, найчастіше – поблизу придатків шкіри). На проміжному етапі (від стадії еритеми й набряку до стадії склерозу), або етапу набряку й ущільнення (ет. Н-У) спостерігалась тенденція: чим менш виражений інфільтрат –  $(28,33 \pm 2,12)$  %, тим менше в ньому *CD3+* клітин –  $(17,42 \pm 0,82)$  %. Серед *T*-лімфоцитів на всіх стадіях БС переважали супресори (*CD8+*), які виявлялись навколо придатків шкіри, а також у периваскулярних інфільтратах, де їх відносна частка складала  $(16,38 \pm 0,54)$  %. На ет. Н-У в інфільтратах спостерігалось підвищення кількості *CD8+* клітин –  $(23,20 \pm 0,63)$  %, так само як і на стадії склерозу (ст. СК) (при збереженні інфільтрації)

–  $(27,12 \pm 0,91)$  %. Інфільтрати, рясно насичені незрілими В-лімфоцитами ( $CD79\alpha$ )  $(32,4 \pm 2,92)$  % були характерні тільки для ст. Е-Н. Місцем їх основної локалізації ставали периферичні частини скупчень. На ет. Н-У і ст. СК  $CD79\alpha$  були одиничними, або взагалі не значилися – відповідно  $(2,75 \pm 0,18)$  % і  $(1,83 \pm 0,12)$  %. Зрілі В-лімфоцити ( $CD20+$ ) на ст. Е-Н становили  $49,13 \pm 1,83$  % усіх клітин інфільтратів, – як периваскулярних, так і навколо придатків шкіри. На ет. Н-У і ст. СК їх відносна частка в інфільтратах збільшувалася – відповідно  $(53,22 \pm 2,75)$  % і  $(72,16 \pm 4,23)$  %, тобто поряд зі зниженням виразності запальних змін при БС у складі мононуклеарних інфільтратів відбувається часткове заміщення Т-лімфоцитів на В-лімфоцити. У популяції останніх переважали зрілі форми, про що свідчить збільшення кількості  $CD20+$  і зниження  $CD79\alpha+$ , збільшення відносної частки  $CD8+$  клітин. У цілому, зміни в імунному статусі при розвитку БС подібні до тих, що мають місце при хронічному запаленні [12]. Макрофаги ( $CD68+$ ) становили  $(14,90 \pm 0,82)$  % клітин лімфоцитарних інфільтратів, частіше – у глибоких шарах дерми і навколо придатків шкіри. При цьому, якщо інфільтрати були розташовані поблизу сосочкового шару, у них також виявлялася значна кількість макрофагів. Окрім того,  $CD68+$  клітини виявлялися в сосочковому шарі при епідермолізі внаслідок набряку. На ст. СК відносно менша кількість  $CD68+$  клітин –  $(6,24 \pm 0,41)$  % зберігалася як в інфільтратах, так і навколо придатків шкіри. Судячи з розподілу макрофагів та істотної їх кількості на всіх стадіях БС, вочевидь їм належить основна роль у запуску фібротичних змін поміж усіх клітин імунного ряду. Збереження значної кількості  $CD68+$  на ет. Н-У підтверджує їх роль у підтримці склеротичних перебудов. Вміст клітин Лангерганса ( $CD1\alpha$ ) в епідермісі на ст. Е-Н був дещо підвищений –  $(5,75 \pm 0,65)$  % у порівнянні з контролем. Вони ніколи не формували скупчень, і найчастіше їх розподіл носив рівномірний характер. Їх кількість дещо зростала на ет. Н-У –  $(7,50 \pm 0,64)$  % й знижувалася при формуванні склерозу –  $(3,75 \pm 0,18)$  %. За різкої атрофії епідермісу  $CD1\alpha+$  клітин могло зовсім не бути. Збільшення клітин Лангерганса може мати компенсаторне значення для підтримки нормального гомеостазу, або відігравати певну роль у запуску склеротичних і атрофічних змін шкіри. На стадії атрофії, вочевидь, їх розмноження в епідермісі стримується так само, як і інших ви-

дів клітин у цьому шарі шкіри. Рівень синтезу ендогліну ( $CD105+$ ) істотно підвищувався в клітинах ендотелію на всіх стадіях БС. На ст. Е-Н та ет. Н-У позитивне фарбування на  $CD105+$  виявлялось також в оболонках судин, дендроцитах дерми, імунних клітинах інфільтратів і в одиничних імунних клітинах. Судячи з розподілу  $CD105+$  клітин у ділянках запалення, ними, найімовірніше, були макрофаги, що вказує на можливість активації синтезу додаткових рецепторів до ростових факторів і, відтак, включення до патогенетичного ланцюга склерозу імунних клітин певних типів. Слід зазначити, що на ст. СК кількість неендотеліальних  $CD105+$  клітин істотно знижувалася. Як правило, усі  $CD105+$  клітини були ендотеліальними або концентрувалися в стінці судин. Це свідчить про те, що з розвитком БС відбувається поступова зміна механізмів запуску і підтримання склерозу. Можливо, що тільки початкові фібротичні зміни вимагають активного синтезу рецепторів до ростових факторів у клітинах імунного ряду.

*eNOS* ендотеліоцити виявлялись на ст. Е-Н в усіх судинних структурах, переважно – в осередках інфільтрації, іноді – в периваскулярних клітинах. На ст. СК кількість судин з активною реакцією на *eNOS* значно знижувалася, що співпадає з даними S. A. Cotton *et al.* (2009) [11]. Включення механізмів підсилення синтезу *eNOS* на початкових стадіях розвитку БС, особливо в осередках запалення, на нашу думку, демонструє зміцнення захисних механізмів в ендотеліальних клітинах, виснаження яких спостерігається на наступних стадіях розвитку БС. З огляду на існуючий тісний зв'язок між активністю *eNOS* і синтезом ендогліну [11], ми припускаємо, що початкова активація *eNOS* може сприяти підвищенню процесу вироблення ендогліну, одного з посередників склеротичних змін у клітинах ендотелію й клітинах інших типів. Процес подальшого вироблення цього протеїну може підтримуватися за рахунок підвищення активності інших форм синтаз азоту.

Помітні зміни в складі клітин дерми при БС, у порівнянні з контролем, вже на ст. Е-Н свідчать про запуск механізмів фібротичних змін на ранніх стадіях хвороби. Як правило, запальні зміни на ст. Е-Н і наступному ет. Н-У супроводжуються збільшенням кількості віментин-позитивних клітин і  $\alpha SMA+$ , поряд з постійним зниженням кількості  $CD34+$  дендроцитів дерми, що узгоджується з даними В. В. Савенкової (2008, 2009) [8, 9] та E. Yokoyama (2005) [16].



Кількість віментин-позитивних клітин суттєво збільшувалася на ст. Е-Н у зонах лімфоїдної інфільтрації й, особливо, навколо них, незалежно від локалізації інфільтратів у глибоких шарах дерми, або ж у сосочковому шарі і поверхневих ділянках сітчастого шару. Їх розподіл у деяких випадках збігався з розподілом  $\alpha$ SMA+ клітин. На ст. СК їх кількість знижувалася в обох шарах дерми і навколо придатків шкіри. Більш виражена негативна динаміка була характерна для сосочкового й поверхневих ділянок сітчастого шару дерми.

Кількість  $\alpha$ SMA+ на ст. Е-Н істотно зростала в гладком'язових клітинах судин і перичитах капілярів та дрібних судин дерми. Динаміка нагромадження клітин відповідала прогресуванню запальних змін та інфільтрації, особливо навколо придатків шкіри. Їх кількість значно зростала в інтерстиції глибоких ділянок дерми, позбавлених придатків. На ст. Н-У їх кількість була максимальною. На ст. СК їх число знижувалось, однак залишалось зрослим у порівнянні з контролем. Одночасна експресія віментину й  $\alpha$ SMA+ характерна для міофібробластів, серед яких розрізняють 5 фенотипів, один з них – позитивний на віментин і  $\alpha$ SMA+. Міофібробласти секретують колаген I і II типу, відіграють основну роль у склерозі різних органів [14]. У міру посилення фіброзу кількість віментин-позитивних і  $\alpha$ SMA+ клітин, тобто міофібробластів, знижувалася. Зміни клітинного складу навколо придатків шкіри носили більш виражений характер, чим у ділянках шкіри, позбавлених придатків, що узгоджується з даними Е. Yokoyama (2005) [16]. За нашими даними,  $\alpha$ SMA+ клітини виявлялися на всіх стадіях БС, що визначає їх фібротичну роль протягом усіх стадій розвитку захворювання.

CD34+ дендрцити дерми на ст. Е-Н бляшкової склеродермії при незначній інфільтрації виявлялись в дещо меншій кількості, чим в контролі, і їх розподіл міг бути відносно рівномірним в обох шарах дерми. Реакцією на CD34+ підтверджується також той факт, що на цій стадії БС щільність дрібних судин і капілярів зменшувалася. На ст. Н-У починає формуватися градієнт, пов'язаний з істотним ослабленням позитивної реакції на такий маркер у сосочковому й поверхневих зонах сітчастого шарів дерми. На ст. СК знижувалася кількість CD34+ дендрцитів у глибоких шарах і навколо придатків шкіри; при цьому їх практично не було в сосочковому шарі, який до того часу зазнавав значних фібротичних змін. Таким чином, при БС змінюється

співвідношення між CD34+ дендрцитами та міофібробластами. Віментин+,  $\alpha$ SMA+, тобто міофібробласти, вступають у процес проліферації і, відтак, обумовлюють розвиток фіброзу, а CD34+ дендрцити, вочевидь, малоактивні і не є першорядними учасниками фібротичних змін, а пов'язані з T-лімфоцитарними імунними реакціями. У цілому, більш виражені зміни клітинного складу, як і кількості колагену IV типу, ми спостерігали навколо придатків шкіри. Порушеннями синтезу білків у дермі, які починаються на самих ранніх стадіях розвитку БС [17], можна пояснити й зниження прошарку колагену IV типу під епідермісом, а запальні зміни з боку судин, навпаки, викликають нагромадження цього білка навколо базальної мембрани капілярів і дрібних судин з подальшим зменшенням його на ст. СК.

Підвищена проліферативна активність на всіх стадіях БС була пов'язана з мононуклеарними інфільтратами, знижуючись з ослабленням запалення. Якщо на ст. Е-Н Ki67+ клітини становили до 7-10 % від загальної кількості клітин інфільтрату, то на ст. Н-У їх кількість в інфільтратах знижувалася, а серед дендрцитів дерми вони не виявлялися. На ст. СК кількість Ki67+ клітин в епідермісі, дермі й у придатках шкіри була мінімальною.

Апоптотичні зміни спостерігалися паралельно включенню антиапоптотичних програм, будучи максимально вираженими у клітинах інфільтратів і в дендрцитах дерми на ст. Е-Н. На цій стадії ми зафіксували найбільший (до 10 %) відсоток запрограмованих на загибель клітин, позитивних на каспазу-3, у складі імунних клітин, а також у складі дендрцитів навколо ділянок запалення. Напевне, імунні клітини активізують загибель клітин навколо інфільтрованих ділянок. Кількість позитивних на каспазу-3 клітин в інфільтратах зменшувалася відповідно до зниження активності запального процесу. Судячи з активності каспази-3 в ендотеліальних клітинах, зникнення судин пов'язане з активацією апоптозу через цей фермент. На ст. Е-Н bcl2+ клітини могли становити до 40 % клітин інфільтратів, крім того вони перебували в складі дермальних дендрцитів. Подальше зниження як позитивних на каспазу-3, так і bcl2+ клітин, на ст. Н-У і ст. СК відбувалося одночасно й було взаємозалежним. На нашу думку, це свідчило про спільність реакції на фактори, якими обумовлене прогресування захворювання у різних клітинних популяціях.

При СЛ у шкірі переважали інфільтрати, насичені макрофагами і T-лімфоцитами,

серед яких переважно більшість становили *T*-супресори. Щодо імунного статусу, СЛ є більш близьким до БС у ст. Е-Н. Розподіл і кількість дермальних клітин (зниження *CD34+* дендроцитів, збільшення віментин-позитивних і  $\alpha$ *SMA+* міофібробластів, клітин Лангерганса) свідчили про активні запальні процеси поряд з прогресуванням фіброзних змін. На спільність механізмів розвитку фіброзу при СЛ і БС вказували підвищення рівня *CD105+* клітин й істотне зниження рівня *eNOS*. Судячи зі змін у розподілі колагену IV типу, перебудови в складі матриксних білків і білків базальних мембран також мали загальні риси з БС. У всіх вивчених випадках БС і СЛ підвищення проліферативної активності було пов'язане з ділянками інфільтрації; дендроцити, позитивні на *Ki67*, зустрічалися рідко. Таким чином, збільшення кількості міофібробластів пов'язане зі зміною фенотипу сполучнотканинних клітин, тобто переходом фібробластів у міофібробласти більшою мірою, чим з їх розмноженням. При СЛ у меншій мірі, чим при БС, дермальні дендроцити були залучені в апоптотичні й паралельні їм антиапоптотичні зміни. Активність каспази-3 і *bcl2* у клітинах інфільтратів перебувала приблизно на одному і тому ж рівні при БС (ст. Е-Н) і СЛ.

При АД найбільш виражені запальні й фіброзні зміни охоплювали сосочковий шар і глибокі шари дерми, і меншою мірою вони торкалися придатків шкіри. Склад запального інфільтрату відрізнявся більшою відносною часткою зрілих *B*-лімфоцитів й істотною часткою макрофагів. Про меншу виразність запалення з боку дрібних судин свідчила збережена на рівні контролю товщина прошарку колагену IV типу в базальному шарі епідермісу і судин. На користь спільних з БС шляхів формування фіброзу свідчило підвищення рівня клітин, позитивних на ендоглін, у стінці судин і в клітинах інфільтратів, що мало місце паралельно зі зниженням активності *eNOS*. У цих змінах певну роль також відіграло підвищення рівня міофібробластів і зниження кількості *CD34+* дендроцитів.

Таким чином, виходячи з однотипності імуністехімічних (15 маркерів) ланок морфопатогенезу БС, АД і СЛ, останні можна розглядати як різновиди ОС з іншою клінічною симптоматикою.

Враховуючи роль системи імунітету в патогенезі ОС [4], певний інтерес набувала порівняльна оцінка його клітинної та гуморальної ланок при різних її формах. Рівень ЦІК у хворих на ОС (БС, АД, СЛ) ( $n=130$ ) вірогідно під-

вищувався у порівнянні зі здоровими особами контрольної групи ( $n=30$ ). Встановлено, що параметри ЦІК свідчать про високий ступінь поширеності перебігу патологічного процесу:

- при БС, – якщо вони перевищують 135 од. опт. щіл.;

- при обмеженому СЛ – якщо вони перевищують 110 од. опт. щіл.;

- при дисемінованому СЛ – якщо вони перевищують 130 од. опт. щіл.

Спостерігається достовірне підвищення рівня *IgG* при загостреннях хронічного процесу та при дисемінованих формах дерматозу. Значення абсолютної кількості лейкоцитів не відрізнялись між хворими на ОС окремих груп та параметрами у здорових людей. Ми спостерігали перерозподіл *T*-ланки імунітету, яка характеризувалася зниженням загального пулу *T*-лімфоцитів (*CD3+*), *T*-хелперів (*CD4+*) і молекул клітинної адгезії (*CD54+*) на тлі вірогідного підвищення кількості *B*-лімфоцитів (*CD22+*), натуральних кілерів (*CD16+*), активаторів експресії (*CD25+*), рецепторів апоптозу (*CD95+*) і *HLA-DR+*. Аналіз зв'язків між абсолютним вмістом окремих популяцій імуніцитів у хворих на ОС виявив високо достовірні прямі кореляції:

- кількості *CD22+*-лімфоцитів – з рівнями клітин, що мають рецепцію *CD3+*, *CD4+*, *CD8+*, *CD16+*, *CD25+*, *CD54+*, *CD95+* та *HLA-DR+*-лімфоцитів;

- кількості *CD25+* – з загальним рівнем лімфоцитів, показниками *CD4+*, *CD8+*, *CD16+*, *CD22+*, *CD54+*, *CD95+* і *HLA-DR+*-лімфоцитів;

- кількості *CD95+* – з абсолютними параметрами лейкоцитів й лімфоцитів, вмістом *CD3+*, *CD4+*, *CD8+*, *CD16+*, *CD22+*, *CD25+*, *CD54+*, та *HLA-DR+*-лімфоцитів.

У загальній групі хворих на ОС ( $n = 130$ ) варіант захворювання і його поширеність мало впливають на інтегральний стан системи імунітету, про що свідчить виконаний багатофакторний дисперсійний аналіз за Уїллкоксоном–Рао; при цьому однофакторний аналіз демонструє вірогідну дію на концентрацію сироваткового *IgA* поширеності ураження шкіри. Окрім того, існує достовірний прямий кореляційний зв'язок виразності уражень шкіри з цим секреторним класом імуноглобулінів. За нашими даними, параметри *IgA* більше 3 ммоль/л вказують на поширений характер перебігу захворювання і мають прогноз-негативну значимість. У патогенетичних побудовах ОС беруть участь *IgA*, *CD4+*, *CD38+* і *CD95+*, оскільки за результа-

тами *ANOVA* перші два параметри визначають варіант ОС (БС, АД, СЛ), а третій й четвертий – ступінь поширеності захворювання.

Згідно даних багатофакторного дисперсійного аналізу за Уїлкоксоном–Рао, клінічна форма ОС чинить достовірний вплив на інтегральні показники АРВК; у загальній групі хворих на ОС показники:

- ОВ сироватки крові складають  $1,6 \pm 0,06$  мПахс;

- ПВ –  $15,9 \pm 0,21$  мН/м;

- ВЕ –  $23,2 \pm 0,86$  мН/м;

- ПП –  $43,0 \pm 0,74$  мН/м;

- ПН –  $42,5 \pm 0,23$  мН/м;

- ЧР –  $113,8 \pm 2,88$  с.

У порівнянні зі здоровими людьми (контроль), відзначаються вірогідно більш високі (на 33 %) параметри ОВ (табл. 1).

Таблиця 1 - Показники АРВК у обстежених хворих та здорових людей ( $M \pm m$ )

Показники	Групи обстежених				
	Хворі				Здорові (контроль) ( $n=30$ )
	Загальна група. Обмежена склеродермія ( $n=130$ )	Бляшкова склеродермія ( $n=48$ )	Ідіопатична атрофодермія ( $n=13$ )	Склероатрофічний ліхен ( $n=44$ )	
ОВ, мПахс	$1,6 \pm 0,06$	$1,8 \pm 0,08$	$1,3 \pm 0,06$	$1,3 \pm 0,05$	$1,2 \pm 0,03$
ПВ, мН/м	$15,9 \pm 0,21$	$15,9 \pm 0,29$	$15,8 \pm 0,41$	$15,8 \pm 0,43$	$15,9 \pm 0,33$
ВЕ, мН/м	$23,2 \pm 0,86$	$23,4 \pm 1,20$	$23,3 \pm 1,85$	$22,6 \pm 1,63$	$23,6 \pm 1,32$
ПП, мН/м	$43,0 \pm 0,74$	$43,1 \pm 1,16$	$41,7 \pm 1,03$	$44,2 \pm 1,12$	$43,3 \pm 0,81$
ПН, мН/м	$42,5 \pm 0,23$	$42,1 \pm 0,33$	$42,9 \pm 0,45$	$43,3 \pm 0,40$	$43,0 \pm 0,34$
ЧР, с	$113,8 \pm 2,88$	$114,3 \pm 4,29$	$117,8 \pm 4,27$	$108,7 \pm 5,49$	$112,4 \pm 3,65$

При БС (але не АД і СЛ) достовірно зростають (на 50 %) віскозні властивості крові. У такої категорії пацієнтів на 39 % вище параметри ОВ у порівнянні з хворими на АД і СЛ. Окрім того, відносно порівняльної оцінки значень ПН при БС і СЛ у другій групі показники виявилися вірогідно вище на 3 %. Підвищення параметрів ОВ більше  $1,4$  мПахс (більше  $M+SD$  здорових) виявлено:

- у 48 % усіх хворих на ОС;
- у 65 % усіх хворих на БС;
- у 29 % усіх хворих на АД;
- у 22 % усіх хворих на СЛ.

Відмінності частоти були достовірні відносно «Бляшкова склеродермія + Ідіопатична атрофодермія» і «Бляшкова склеродермія + Склероатрофічний ліхен», однак не «Ідіопатична атрофодермія + Склероатрофічний ліхен».

Як свідчить *ANOVA/MANOVA*, від поширеності ураження шкіри залежить інтегральний стан АРВК, що в повній мірі відноситься до груп хворих на БС і СЛ, але не АД. Здійснений *ANOVA* демонструє достовірний вплив поширеності дерматозу на показники ВЕ і ЧР, а в групах з БС і АД – на параметри ПВ. В'язкоеластичні властивості сироватки крові достовірно залежать від виразності ураження шкіри у хворих на СЛ.

У загальній групі хворих на ОС, а також при БС, АД і СЛ існують високо достовірні прямі кореляційні зв'язки між поширеністю ураження шкіри і параметрами ВЕ. У загальній групі ОС та при СЛ мають місце позитивні співвідношення з

показниками ПП, а при БС – із значеннями міжфазної активності (але вже обернені кореляції).

Однофакторний дисперсійний аналіз вказує на патогенетичний зв'язок уражень шкіри серед усіх пацієнтів з показниками ВЕ, ПП і ПН. Від в'язкоеластичних властивостей крові залежить вираженість розвитку патології шкіри при БС, АД і СЛ, а у хворих на БС – з міжфазною активністю, у хворих на СЛ – з ПП. Різноплановий дисперсійний і кореляційний аналіз дозволили нам зробити висновок, що має практичну значущість: показники ВЕ, що перевищують  $28$  мН/м, вказують на поширений перебіг захворювання.

Рівень ОВ обернено корелює з параметрами *cGMP*; ПВ і ПП – прямо співвідносяться з концентрацією сироваткового ЕТ1; ЧР – з вмістом *IgM* і *IgG*. При БС показники ОВ, ПН і ЧР відповідно корелюють з вмістом імуніцитів у крові, що мають рецептори *CD25+*, *CD95+* та *CD16+*; параметри ПВ і ПП при СЛ – з рівнем ендотелінемії; ПВ і ЧР при АД – з вмістом вазодилататорів – відповідно *cGMP* і *PgI2*.

У загальній групі хворих на ОС показники в крові склали (табл. 2):

- ЕТ1 –  $5,7 \pm 0,18$  пг/мл;

- ТхА2 –  $18,6 \pm 0,66$  нг/мл;

- *PgI2* –  $40,2 \pm 3,56$  нг/мл;

-  $NO_2$  –  $5,7 \pm 0,09$  мкмоль/л;

- *cGMP* –  $12,8 \pm 0,29$  пкмоль/мл.

У порівнянні зі здоровими людьми контрольної групи, встановлено вірогідне підвищення па-



Таблиця 2 - Показники ЕФС у обстежених хворих та здорових людей ( $M \pm m$ )

Показники	Групи обстежених				
	Хворі				Здорові (контроль) ( $n=30$ )
	Загальна група. Обмежена склеродермія ( $n=130$ )	Бляшкова склеродермія ( $n=48$ )	Ідіопатична атрофодермія ( $n=13$ )	Склероатрофічний ліхен ( $n=44$ )	
ET1, пг/мл	5,7±0,18	5,9±0,25	4,6±0,39	6,1±0,28	4,0±0,11
TxA2, нг/мл	18,6±0,66	18,1±0,70	20,6±1,66	18,0±1,80	7,7±1,58
PgI2, нг/мл	40,2±3,56	42,0±6,10	36,5±2,08	38,7±1,58	71,9±10,12
NO <sub>2</sub> , мкмоль/л	5,7±0,09	5,7±0,11	5,9±0,19	5,8±0,21	5,1±0,07
cGMP, пкмоль/мл	12,8±0,29	12,8±0,38	12,1±0,68	13,5±0,56	11,2±0,23

параметрів ET1 на 43 %, TxA2 – у 2,4 разу, NO<sub>2</sub> – на 12 % і cGMP – на 14 % при зменшенні рівня простациклінемії на 44 %. Середні параметри ET1 у сироватці крові відрізняються в групах АД і СЛ на 33 %. Рівні TxA2, PgI2, NO<sub>2</sub> і cGMP у пацієнтів з АД і СЛ між собою відрізняються несуттєво.

Незалежно від варіанту перебігу захворювання, найбільші розрізнення стосуються TxA2. Як демонструє ANOVA/MANOVA, поширеність ураження шкіри слабо впливає на інтегральний стан ЕФС і при БС, і при АД, і при СЛ. Представляє певний інтерес виявлений факт різного дисперсійного впливу поширеності перебігу різних форм ОС на окремі показники ЕФС. Так, поширеність БС чинить вплив на значення в крові ET1, АД – PgI2 і СЛ – cGMP. Між рівнем cGMP і поширеністю БС існують обернені кореляційні зіставлення, у зв'язку з чим можна розглядати показники в сироватці крові cGMP, що перевищують 10 пкмоль/мл (тобто перевищують  $M-SD$  хворих на БС), як прогноз-негативні.

На поширеність ураження шкіри при АД достовірно впливає рівень нітритемії. Встановлено визначені прямі кореляційні зв'язки показників ЕФС з параметрами системи імунітету. Так,

рівень TxA2 корелює з вмістом ЦІК у сироватці крові, PgI2 – з концентрацією IgA, NO<sub>2</sub> – з IgM, IgG. При БС відзначається пряма взаємозалежність рівня ET1 з числом імуніцитів CD16+ і CD95+, при АД – негативні зв'язки NO<sub>2</sub> з CD4+ та cGMP з CD22+, при СЛ – TxA2 з CD25+.

Узагальнюючи отримані дані імуногістохімічних, імунологічних та судинних досліджень, можна зробити висновок, що БС, СЛ та АД об'єднує спільність у патогенетичних побудовах. Вищезазначене та наявність 11 випадків поєднання БС і СЛ, БС і АД свідчить про те, що їх слід розглядати, як підтипи ОС з різною клінічною симптоматикою.

**Висновок.** У хворих на бляшкову склеродермію, склероатрофічний ліхен, ідіопатичну атрофодермію констатовано подібні показники порушень імунної системи, адсорбційно-реологічних властивостей крові, ендотеліальної функції судин та експресії імуногістохімічних маркерів шкіри, що дозволяє розглядати бляшкову склеродермію, склероатрофічний ліхен і ідіопатичну атрофодермію як підтипи обмеженої склеродермії.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Болотная Л. А. Коррекция дисфункции эндотелия при ограниченной склеродермии / Л. А. Болотная, Н. Н. Хаустова // Междунар. мед. журн. – 2006. – № 1. – С. 79-82.
2. Вулф Л. Дерматология по Томасу Фицпатрику / Л. Вулф, Р. Джонсон, Д. Сюрмонд. Атлас-справочник. Пер. с англ. 2-е рус. изд. – М.: Практика. – 2007. – 1248 с.
3. Дерматология / Т. Фицпатрик, Р. Джонсон, К. Вулф [и др.]. – Атлас-справочник. Пер. с англ. – М.: Практика, 1998. – 404 с.
4. Довжанский С. И. Клинико-иммунологические параллели при ограниченной и системной склеродермии / С. И. Довжанский // Рос. журн. кожн. вен. болезней. – 2002. – № 4. – С. 12-15.
5. Клинико-морфологическая диагностика и принципы лечения кожных болезней / М. А. Пальцев, Н. Н. Потеев, И. А. Казанцева, С. С. Кряжева. – М.: Медицина, 2006. – 512 с.
6. Мавров И. И. Основы диагностики и лечения в дерматологии и венерологии / И. И. Мавров, Л. А. Болотная, И. М. Сербина. – Харьков: Факт, 2007. – 792 с.
7. Молочков В. А. Очаговая склеродермия, ассоциированная с другими аутоиммунными заболеваниями и спектром различных аутоан-

- тител / В. А. Молочков, Е. С. Снарская, А. С. Ромашкина // Рос. журн. кожн. вен. болезней. 2011. – № 4. – С. 33-36.
8. Савенкова В. В. Морфофункциональные особенности кожи при очаговой распространенной склеродермии / В. В. Савенкова // Дерматовенерология. Косметология. Сексопатология. – 2008. – № 1-2. – С. 93-96.
  9. Савенкова В. В. Стромально-сосудистые изменения в коже больных ограниченной склеродермией на различных стадиях заболевания / В. В. Савенкова // Дерматол. венерол. – 2009. – № 2 (44). – С. 16-20.
  10. Diagnostic usefulness of dermatoscopy in differentiating lichen sclerosus et atrophicus from morphea / W. H. Shim, S. W. Jwa, M. Song [et al.] // J. Am. Acad. Dermatol. – 2012. – Vol. 66, No 4. – P. 690-691.
  11. Endothelial expression of nitric oxide synthases and nitrotyrosine in systemic sclerosis skin / S. A. Cotton, A. L. Herrick, M. I. Jayson, A. J. Freemont // J. Pathol. – 2009. – Vol. 189, No 2. – P. 273-278.
  12. Expression of CD1 $\alpha$  and CD86 on scleroderma Langerhans cells / Y. Xie, X. Zhang, Y. Inoue [et al.] // Eur. J. Dermatol. – 2008. – Vol. 18, No 1. – P. 50-54.
  13. Fabri M. Pathogenesis of systemic sclerosis / M. Fabri, T. Krieg // Hautarzt. – 2007. – Bd. 58, H. 10. – S. 838-843.
  14. Kisseleva J. Mechanisms of fibrogenesis / J. Kisseleva, D. A. Brenner // Exper. Biology and Medicine. – 2008. – Vol. 233. – P. 109-122.
  15. Type I and II collagens and mast cells expression in the skin lesions from the patients with localized scleroderma / D. Wielowieyska-Szybinska, A. Wojas-Pelc, G. Dyduch, A. Zawisz // Przegl. Lek. – 2008. – Vol. 65, No 4. – P. 161-165.
  16. Yokoyama E. Immunohistochemical evaluation of dermal mesenchymal cells in relation to the development of scleroderma / E. Yokoyama // Bull. Yamaguchi Med. – 2005. – Vol. 52, No 3-4. – P. 43-53.
  17. Walters R. Elastic fiber pattern in scleroderma/morphea / R. Walters, M. Pulitzer, H. Kamino // J. Cutan. Pathology. – 2009. – Vol. 36, No 9. – P. 952-957.
  18. Zulian F. New developments in localized scleroderma / F. Zulian // Curr. Opin. Rheumatol. – 2008. – Vol. 20. – P. 601-607.

#### ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ВЗАИМООТНОШЕНИЯ МЕЖДУ БЛЯШЕЧНОЙ СКЛЕРОДЕРМИЕЙ, АТРОФОДЕРМИЕЙ ПАЗИНИ–ПЬЕРИНИ И СКЛЕРОАТРОФИЧЕСКИМ ЛИХЕНОМ

**Дюдюн А. Д., Романенко К. В., Горбунцов В. В.**  
ГУ «Днепропетровская медицинская академия  
Министерства здравоохранения Украины»

У 130 больных бляшечной склеродермией, склероатрофическим лихеном, атрофодермией констатированы подобные показатели нарушений иммунной системы (CD3, CD4, CD8, CD16, CD22, CD25, CD38, CD95, IgA, IgG, IgM, ЦИК, TNF $\alpha$ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10), адсорбционно-реологических свойств крови (ОВ, ПВ, ВЭ, ПУ, ПН, ВР), эндотелиальной функции сосудов (ET1, TxA2, Pgl2, NO $_2$ , cGMP) и экспрессии 15 иммуногистохимических маркеров кожи ( $n = 56$ ) (CD3, CD8, CD20, CD79 $\alpha$ , CD68, CD1 $\alpha$ , CD34, CD105,  $\alpha$ SMA, виментин, eNOS, коллаген IV типа, Ki67, bcl2, каспаза-3), что позволяет рассматривать бляшечную склеродермию, склероатрофический лихен и атрофодермию как подтипы ограниченной склеродермии.

**Ключевые слова:** ограниченная (бляшечная) склеродермия, склероатрофический лихен, атрофодермия, иммуногистохимические и иммунологические исследования, адсорбционно-реологические свойства крови, эндотелиальная функция сосудов.

#### PATHOGENIC INTERRELATIONS OF MORPHEA, ATROPHODERMA OF PASINI AND PIERINI, AND LICHEN SCLEROSUS ET ATROPHICUS

**Dyudyun A.D., Romanenko K.V., Gorbuntsov V.V.**  
“Dnipropetrovsk Medical Academy of Health Ministry of Ukraine” SE

130 patients with morphea, lichen sclerosus et atrophicus, atrophoderma demonstrated similar indices of immune system disorders (CD3, CD4, CD8, CD16, CD22, CD25, CD38, CD95, IgA, IgG, IgM, ЦИК, TNF $\alpha$ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10), adsorptive and rheological properties of blood (EV, SV, VE, SF, ST, RT), the endothelial function of vessels (ET1, TxA2, Pgl2, NO $_2$ , cGMP) and expression of 15 skin immunohistologic markers ( $n = 56$ ) (CD3, CD8, CD20, CD79 $\alpha$ , CD68, CD1 $\alpha$ , CD34, CD105,  $\alpha$ SMA, vimentin, eNOS, collagen of type IV, Ki67, bcl2, caspase-3) that allows to consider morphea, lichen sclerosus et atrophicus and atrophoderma to be the subtypes of localized scleroderma.

**Keywords:** localized scleroderma (morphea), lichen sclerosus et atrophicus, atrophoderma, immunohistochemical and immunologic markers, adsorptive and rheological properties of blood, endothelial function of vessels.

**Дюдюн Анатолий Дмитриевич** – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой кожных и венерических болезней ГУ «Днепропетровская медицинская академия Министерства здравоохранения Украины».

**Горбунцов Вячеслав Вячеславович** – доктор медицинских наук, профессор кафедры кожных и венерических болезней ГУ «Днепропетровская медицинская академия Министерства здравоохранения Украины».

**Романенко Кирилл Всеволодович** – доктор медицинских наук, доцент кафедры дерматовенерологии. doctorkvr@mail.ru